

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. Februar 2001 (08.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/09282 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12M 3/00
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/06153
(22) Internationales Anmeldedatum:
1. Juli 2000 (01.07.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 35 643.2 29. Juli 1999 (29.07.1999) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: BADER, Augustinus [DE/DE]; Hinter den langen Höfen 16, D-31275 Lehrte (DE).

(74) Anwalt: LORENZ, Werner, Fasanenstrasse 7, D-89522 Heidenheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

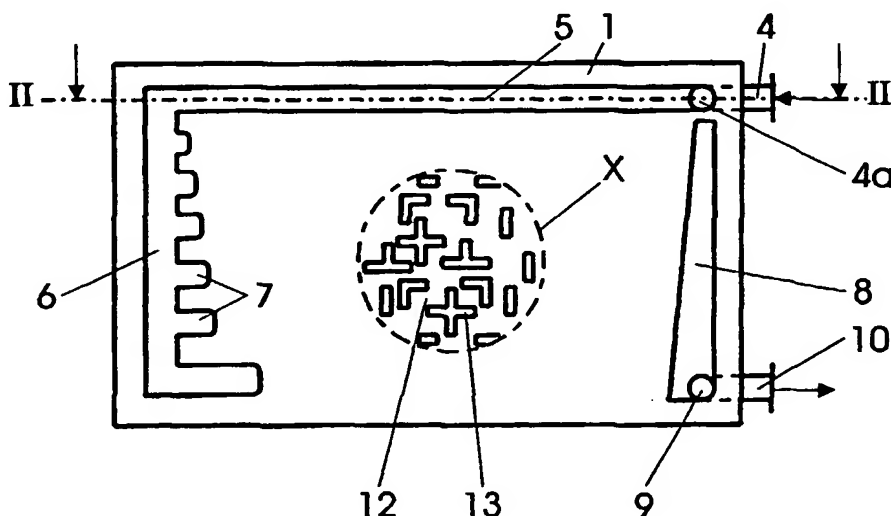
Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR CULTURING AND/OR TREATING CELLS

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUM ZÜCHTEN UND/ODER BEHANDELN VON ZELLEN



(57) Abstract: The invention relates to a device for culturing and/or treating cells which has the following features: A malleable cell culture area (11a) is positioned on a support (1). Said cell culture area is formed on one side by the support (1) or a support film (3) which is laid on the support (1) and on the other side by a cell culture film (2) which is located above said support or support film. The cell culture film (2) is elastic, in such a way that the final volume of the cell culture area (11a) can be many times greater than its initial volume. The cell culture area (11a) is provided with both a supply line and an outlet line (4, 10). Oxygen or air can be introduced into the cell culture area (11a) via the support (1), the support film (3) and/or the cell culture film (2).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 01/09282 A2



Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Eine Vorrichtung zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen ist mit folgenden Merkmalen versehen: Auf einem Träger (1) ist ein formbarer Zellkulturraum (11a) angeordnet, der durch den Träger (1) auf einer Seite oder eine auf den Träger (1) gelegte Trägerfolie (3) und eine darüber angeordnete Zellkulturfolie (2) auf der anderen Seite gebildet ist. Die Zellkulturfolie (2) ist derart elastisch, daß das Endvolumen des Zellkulturraums (11a) ein Vielfaches seines Ausgangsvolumens einnehmen kann. Der Zellkulturraum (11a) ist mit jeweils einer Zu- und Ablaufleitung (4, 10) versehen. Über den Träger (1), die Trägerfolie (3) und/oder die Zellkulturfolie (2) ist Sauerstoff oder Luft in den Zellkulturraum (11a) einbringbar.

Vorrichtung zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen nach der im Oberbegriff von Anspruch 1 näher definierten Art. Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zum Züchten und Behandeln von Zellen.

In der DE 42 06 585 C2 ist eine Vorrichtung zur Massenkultur von Zellen, insbesondere von Hepatozyten, auf plattenartigen Zellkulturträgern beschrieben, wobei wenigstens ein Teil der Oberflächen der Zellkulturträger gasdurchlässig ist. In das Innere der Zellkulturträger ist Sauerstoff einleitbar und auf dem Zellkulturträger ist eine die Zellen bedeckende Kollagenschicht aufgetragen. Direkt oder mit geringem Abstand über der Kollagenschicht ist der nächste Zellkulturträger angeordnet. In die Kollagenschicht oder in den Zwischenraum zwischen der Kollagenschicht und dem nächsten Zellkulturträger ist Kulturmedium einleitbar. Die Vorrichtung ist sandwichartig aufgebaut. Nachteilig bei dieser Vorrichtung ist, daß stets genau definierte Zellenkammern mit bestimmten Volumina vorhanden sind. Darüber hinaus ist es schwierig die Zellen in den Zellenkammern zu beobachten, um eventuelle Veränderungen bzw. Entwicklungszustände festzustellen.

In der DE 42 22 345 A1 ist ein Verfahren zum Züchten einer Zellart im Cokulturverfahren mit Leberzellen beschrieben, wobei eine Kultivierung von Leberzellen auf einem Träger im Sandwichverfahren erfolgt. Zwischen den Leberzellen und dem Träger ist eine erste Matrixschicht zur Verankerung der Leberzellen angeordnet und über den Leberzellen befindet sich eine zweite Matrixschicht.

Die WO 95/17526 beschreibt ein Verfahren zum Züchten von Haut nach einem sogenannten "air Lift"-Verfahren. Dabei wird Gas oder sterile Luft in eine Zellwachstumschamber gebracht. Die Zellen sitzen dabei auf einer semipermeablen Membran. Basalzellen, die auf der semipermeablen Membran liegen, werden über die Mediumchamber mit Nährstoffen aufgrund Diffusion versorgt. Die Basalzellen wachsen zur Luftphase hin mehrschichtig. Nachteilig ist dabei jedoch, daß bei dem vorbekannten Verfahren die Hautstruktur "auf dem Kopf" liegt. Dies bedeutet, daß andere Zelltypen, wie z.B. Bindegewebszellen (Fibroblasten) entweder zuerst ausgesät und abgewartet werden muß oder die Haut muß mechanisch angehoben werden. Auf diese Weise kann es jedoch zu einer Zerstörung der empfindlichen Strukturen kommen.

Die DE 197 19 751 A1 betrifft eine Vorrichtung zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen, wobei auf einem gasdurchlässigen Träger eine Zellenchamber angeordnet ist. Die Zellenchamber ist durch eine gaspermeable, nicht flüssigkeitsdurchlässige Folie gebildet, die auf den Träger aufgelegt ist, und durch eine zweite mikroporöse Folie, die über der ersten Folie angeordnet oder mit dieser einstückig ist. Wenigstens eine der beiden Folien ist derart elastisch, daß das Endvolumen in der Zellenchamber ein Vielfaches seines Ausgangsvolumens einnehmen kann. Die Zellenchamber ist mit wenigstens einer Zu- und/oder Ablaufleitung versehen. Diese vorbekannte Vorrichtung ist insbesondere für ein Massenkultursystem geeignet. Darüber hinaus läßt sie sich den jeweiligen Anforderungen anpassen, denn man kann mit einem sehr kleinen Volumen und einer geringen Zellenzahl beginnen, die in der Zellenchamber behandelt oder kultiviert werden, und dann im Laufe der Behandlung das Anfangsvolumen auf ein Vielfaches vergrößern. Dabei können auch ein oder mehrere Einheiten sandwichartig übereinander in einem konventionellen Wärmeschrank gestellt werden.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde eine Vorrichtung nach der DE 197 19 751 A1 weiter zu verbessern, insbesondere eine weitere Vereinfachung und eine noch größere Variabilität der Vorrichtung.

Erfindungsgemäß wird dies durch die in Anspruch 1 genannten Merkmale gelöst.

Ein erfindungsgemäßes Verfahren ist in Anspruch 37 angegeben.

Eines der wesentlichen Vorteile der erfindungsgemäßen Vorrichtung und des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht darin, daß man auf diese Weise einen sehr flachen Zellkulturraum mit minimaler Schichtdicke erhält, wobei die Außenwände des Zellkulturraumes wenigstens teilweise gaspermeabel sind. Durch die Formbarkeit des Zellkulturraumes wird eine hohe Variabilität der Vorrichtung bei einer einfachen Ausgestaltung erreicht. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß durch die Geometrie der Vorrichtung eine Formbarkeit des Zellkulturraumes in nahezu beliebiger Weise möglich wird.

Die in den Unteransprüchen aufgezeigten Rahmen und Stabilitätsstrukturen für die Bildung des Zellkulturraumes und der Zellkulturen ermöglichen eine noch weitergehende Formbarkeit, und zwar sowohl vor als auch während der Behandlung der Zellen.

Eine weitere Verbesserung der Erfindung kann darin bestehen, wenn auch die Rahmen und/oder die Stabilitätsstrukturen selbst formbar sind, und zwar sowohl vor als auch während des Kultivierverfahrens.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der erfindungsgemäßen Lösung besteht darin, daß man die gesamte Einheit mit Zellen in

einer definierten Form kontrolliert einfrieren und lagern kann. Auf diese Weise kann die erfindungsgemäße Vorrichtung auch als Transportsystem verwendet werden.

Wie ersichtlich, ist eines der wesentlichen Unterschiede im Vergleich zum Stand der Technik, wobei nur flexible Zellkulturräume bzw. Folien vorhanden sind, nunmehr neben der Möglichkeit einer Flexibilität auch eine Formbarkeit bzw. Modellierbarkeit des Zellkulturraumes bzw. dessen Geometrie zu erreichen. Auf diese Weise lassen sich praktisch beliebige Formen und Gestaltungen für den Zellkulturraum und damit praxisnahe Ergebnisse schaffen.

Wenn in einer erfindungsgemäßen Ausgestaltung vorgesehen ist, daß der Zellkulturraum in Dünnschichtstruktur ausgebildet ist, dann sind, insbesondere zu Beginn der Kultivierung, sehr geringe Sauerstoffdiffusionswege vorhanden.

Vorteilhafte Ausgestaltungen und Weiterbildungen ergeben sich aus den Unteransprüchen und aus den nachfolgend anhand der Zeichnung prinzipmäßig beschriebenen Ausführungsbeispielen.

Es zeigt:

Fig. 1 in schematischer Darstellung eine Draufsicht auf eine Trägerplatte der erfindungsgemäßen Vorrichtung;

Fig. 2 einen Schnitt nach der Linie II-II der Fig. 1 mit einer flexiblen Folie und einer Abdeckplatte;

Fig. 3 eine um 180° gedrehte Anordnung der Vorrichtung nach der Fig. 2 (ohne Abdeckplatte);

Fig. 4 in perspektivischer Ansicht eine rahmenartige Trägerplatte;

Fig. 5 einen Querschnitt nach der Linie V-V der Fig. 4 in vergrößerter Darstellung;

Fig. 6 Prinzipdarstellung eines Bioreaktors;

Fig. 7 eine in Kreisform gebogene Trägerplatte in perspektivischer Darstellung;

Fig. 8 eine in Spiralform gebogene Trägerplatte in perspektivischer Darstellung;

Fig. 9 eine Draufsicht auf eine Struktur als Herzklappe;

Fig. 10 eine Struktur als Herzklappe im Längsschnitt; und

Fig. 11 eine Struktur zur Bildung einer Herzklappe in einem Behälter.

In einer grundsätzlichen Ausgestaltung weist die Vorrichtung eine formbare Trägerplatte als Träger 1 auf, die vorzugsweise aus Kunststoff besteht. Auf die Trägerplatte 1 wird eine gaspermeable und flexible Kunststoffolie 2 aufgebracht, welche an den Rändern dicht mit der Trägerplatte 1 verbunden wird.

Die Trägerplatte 1 ist an einer Stirnseite im Randbereich mit einem Zulaufanschluß 4 versehen, durch den z.B. Nährmedium zugeführt wird, welches aus einer Innenbohrung 9, die mit dem Zulaufanschluß 4 verbunden ist, in eine entlang einer Seitenwand der Trägerplatte 1 verlaufende Zulaufrinne 5 einmündet. In der in die Oberfläche der Trägerplatte 1 eingebrachte Zulaufrinne 5 fließt das Nährmedium seitlich in Richtung der

Stirnseite, die der Zulaufseite gegenüberliegt. Auf dieser Stirnseite mündet die Zulaufrinne 5 in eine Querrinne 6 ein, die sich wenigstens annähernd über die gesamte Breite der Trägerplatte 1 erstreckt. Von der Querrinne 6 aus führen schräg nach oben verlaufende Zungen 7 zur Oberseite der Trägerplatte 1.

Wie aus der Fig. 1 ersichtlich ist, nimmt die Länge und gegebenenfalls auch die Breite der Zungen 7 mit zunehmendem Abstand von der Zulaufrinne 5 zu, damit das Nährmedium gleichmäßig auf der Oberfläche der Trägerplatte 1 verteilt wird und sich auf dieser Weise ein gleichmäßiger Strom in Richtung zu einer ebenfalls quer verlaufenden Auslaufrinne 8 bewegt. Um auch hier einen gleichmäßigen Fluß zu erzeugen und einen entsprechend gleichmäßigen Abfluß kann die Auslaufrinne 8 ebenfalls mit spiegelbildlich dazu liegenden Zungen 7 versehen sein. Alternativ ist es auch möglich - wie in der Fig. 1 dargestellt - eine kontinuierlich sich in Richtung zu einer Auslaufbohrung 9 sich erweiternde Querrinne 8 vorzusehen. Die Auslaufbohrung 9 ist über eine Bohrung im Inneren der Trägerplatte 1 mit einem Ablaufstutzen 10 verbunden, der an die Trägerplatte 1 angesetzt ist. Die Form der beiden Querrinnen 6 und 8 und der Verlauf der Zungen 7 ist nur beispielsweise angegeben. Wesentlich ist lediglich, daß sich über die gesamte Breite der Trägerplatte 1 ein gleichmäßiger und kontinuierlicher Fluß bzw. Strom des Nährmediums ergibt.

Die Verbindung der flexiblen Folie 2 mit der Trägerplatte 1 an den Rändern kann auf beliebige Weise, z.B. durch Klemmen, Kleben, Verschweißen oder Verschrauben erfolgen. Zusammen mit dem Nährmedium oder auch einer anderen Trägerflüssigkeit kann eine Zellkultur 11 in einem Zellkulturraum 11a, der durch die Trägerfolie 3 und die Zellkulturfolie 2 als Dünnschichtstruktur ausgebildet ist, auf die Trägerplatte 1 gebracht werden.

Selbstverständlich ist es auch möglich die Zellkultur 11 vorher auf der Trägerplatte 1 zu verteilen, wobei diese ebenfalls über den Zulaufanschluß 4 eingebracht werden kann. Die Zellkultur 11 setzt sich entsprechend in der Fig. 2 dargestellten Ausführungsform direkt auf der Oberfläche der Trägerplatte 1 ab. Zur Vermeidung von Shearstreß bzw. Überströmungsstreß kann die Oberfläche der Trägerplatte 1 strukturiert sein und zwar derart, daß die Zellen sich in kleinen Vertiefungen 12 der Oberfläche festsetzen. Hierzu kann die Oberfläche der Trägerplatte 1 z.B. schachbrettartig strukturiert sein, mit entsprechenden Vertiefungen 12 und bis zur Oberfläche der Trägerplatte 1 hochgezogenen Seitenwänden 13. In der in dem gestrichelten Kreis X dargestellten Vergrößerung in der Fig. 1 ist diese Struktur ersichtlich. Um eine entsprechende Verbindung zwischen den einzelnen Vertiefungen 12 und damit der Zellen untereinander zu schaffen, können die Wände 13 auch mit Durchbrechungen versehen werden, wobei sich eine Art Labyrinth ergibt. Auch die Folien an sich können profiliert sein, z.B. schachbrettartig, oder Glasfasern oder ein anderes Material enthalten, die eine bestimmte Struktur definieren, die eventuell durch Schmelzprozesse entsprechend verändert werden.

Aus der Fig. 4 ist ersichtlich, daß die Trägerplatte 1 auch nur aus einem Rahmen 1a bestehen kann, mit welchem die flexible Folie 2 verbunden wird. Unter der flexiblen Folie 2 und ebenfalls mit der rahmenartigen Trägerplatte 1a verbunden kann der Raum zwischen dem Rahmen durch eine Trägerfolie 3, die die Außenfolie bildet, ausgefüllt sein. Die Trägerfolie 3 kann, muß jedoch nicht unbedingt, flexibel und/oder gaspermeabel sein. Die Sauerstoffzufuhr zu der Zellkultur 11 erfolgt sowohl bei dem Ausführungsbeispiel nach der Fig. 2 als auch bei dem nach der Fig. 4 über die elastische Folie 2.

Der Rahmen 1a kann mit einer Vielzahl von Noppen 27 versehen sein, die zum Einspannen einer aufgebrauchten flexiblen Folie dienen bzw. zu deren Befestigung. Hierzu kann der Rahmen 1a auch - ähnlich wie zwei Dia-Rahmenhälften - konzipiert sein, wobei in diesem Fall flexible Folien 2 zwischen zwei Rahmen 1a eingelegt und gespannt werden.

Der Rahmen 1a kann auch als eine Art Spannrahmen oder als Spannfeder ausgebildet sein. Durch einen Spannrahmen wird erreicht, daß die mit den Rahmen verbundenen Folien 2 durch diese gespannt werden, womit ein Durchhängen bzw. eine sackartige Ausbildung vermieden wird. Aufgrund der Elastizität der Folien 2 wächst dann während der Kultur der Zellkulturraum 11a entsprechend. In der Fig. 4 ist die Ausgestaltung eines entsprechend offenen Spannrahmens durch einen Schlitz 28 auf einer Seite angedeutet. Der Rahmen 1a ist dabei so ausgebildet, daß in Pfeilrichtung verlaufende Kräfte zum Spannen der dazwischenliegenden Folien 2 entstehen. Anstelle der rechteckigen Ausgestaltung wird man in diesem Falle gegebenenfalls auch einen offenen runden Spannrahmen verwenden, durch den eine allseitige Spannung der Folien 2 leichter erreicht wird.

Die Noppen 27 können auch als Löcher ausgebildet sein, in denen dann die Folien 2 zum Spannen versenkt und entsprechend geklemmt werden.

Die Fig. 5 zeigt einen Querschnitt nach der Linie V-V der Fig. 4 in vergrößerter Darstellung (insbesondere der Folien). Wie ersichtlich ist dabei der Rahmen 1a bzw. eine Leiste derart angeschrägt, daß diese nach innen abfällt. Durch diese Abschrägung werden Toträume im Zellkulturraum 11a vermieden, wenn die Folien 2 und gegebenenfalls die Folie 3 entsprechend aufgelegt werden. In diesem Falle kann man für eine exakte

Führung bzw. Anlage eine in der Fig. 2 dargestellte Abdeckplatte 17 über die Folie 2 aufbringen, wobei die Abdeckplatte 17 eine entsprechend zu der Abschrägung des Rahmens 1a komplementäre Form aufweist. Die Aufgabe der Abdeckplatte 17 und deren Form wird nachfolgend noch näher beschrieben.

Die Fig. 3 zeigt eine umgekehrte Anordnung zur Zucht bzw. Behandlung einer Zellkultur 11 derart, daß sich in diesem Falle die Trägerplatte 1 auf der Oberseite befindet und die elastische Folie 2 darunter hängt. Da die Zellen der Zellkultur 11 in Richtung der Schwerkraft sedimentieren, liegen sie in diesem Falle auf der Innenseite der elastischen Folie 2 an. Im Bedarfsfalle kann dabei die elastische Folie 2 ebenfalls im Sinne der Oberflächengestaltung der Trägerplatte 1 nach der Fig. 1 strukturiert sein. Durch die Oberflächenstrukturierung erfolgt der Fluß des Nährmediums über die sich in den Vertiefungen 12 befindenden Zellen in Form eines feinen Filmes. Die elastische Folie in der Anordnung nach der Fig. 3 kann z.B. zur Ausbildung einer wabenartigen Struktur entsprechend geätzt sein. Die Verbindung der beiden Folien 2 und 3 mit der rahmenartigen Trägerplatte 1a kann z.B. durch Verschrauben oder Klammern, vorzugsweise mit einer entsprechenden Dichtung als Zwischenlage, erfolgen.

Aus der Fig. 3 ist auch in gestrichelter Darstellung ersichtlich, daß man eine Einheit an einer Trägerplatte 1 auch spiegeln kann, womit eine einzige Trägerplatte 1 für die Bildung von zwei Zellkulturräumen 11a verwendet werden kann. Dabei können die beiden Einheiten separat voneinander betrieben werden oder sie können durch ein oder mehrere Durchbrüche 26 miteinander kommunizieren. In diesem Falle kann gegebenenfalls ein gemeinsamer Zulauf und ein gemeinsamer Ablauf vorgesehen sein. Die Zellen können dabei sowohl auf der Innenseite der Zellkulturfolie 2 als auch auf der Trägerplatte 1

angebracht werden. Auf diese Weise wird eine deutliche Material- und Kosteneinsparung erreicht.

Selbstverständlich kann die Überströmung der Trägerplatte 1 mit Nährmedium auch in einfacher Weise von der Zuströmseite mit dem Zulaufanschluß 4 zu der gegenüberliegenden Seite direkt erfolgen und dann dort abgeführt werden. In diesem Falle würde die Zulaufrinne 5 entfallen und lediglich anstelle der den Ablauf bildenden Querrinne 8 diese dann als Zulaufrinne ausgebildet sein und auf der anderen Seite eine entsprechende Ablaufrinne in der Trägerplatte 1 eingebracht sein. Aus praktischen Gründen wird man jedoch die in der Fig. 1 gewählte Strömungsrichtung vorsehen, da in diesem Falle sämtliche Zu- und Ableitungen, welche im allgemeinen in Schlauchform vorgesehen sind, von einer Seite aus erfolgen und damit komplett von einer Seite aus zugänglich sind. Diese Ausgestaltung wird man insbesondere dann vorsehen, wenn - wie in der Fig. 6 dargestellt - mehrere Vorrichtungen in einer Art Bioreaktor 14, z.B. in Form eines Hochregales, behandelt werden. Der Bioreaktor 14 besitzt hierzu eine Vielzahl von entsprechend übereinander angeordneten Einschubfächern 15, in die die Vorrichtungen nach den Figuren 1 bis 4 eingeschoben werden können. Alle Zu- und Abläufe befinden sich dann dabei auf einer Seite. Die einzelnen Module können auch direkt miteinander verbunden werden.

In dem Bioreaktor 14 können - wie ersichtlich - auch mehrere Reihen von Einschubfächern 15 nebeneinander angeordnet sein. Im allgemeinen wird man den Bioreaktor 14 auch mit Rädern 16 für eine leichte Transportierbarkeit versehen.

Anhand der Fig. 2 ist als weitere Möglichkeit zur Behandlung einer Zellkultur 11 die Abdeckplatte 17 erläutert. Die Abdeckplatte 17 wird auf die Folie 2 aufgesetzt. Durch die Ab-

deckplatte 17 kann das Volumen minimiert werden. Die Abstände können auch flexibel eingestellt werden. Dies ist insbesondere in der Vorbereitungsphase, z.B. in den ersten 48 Stunden, von Vorteil, wenn man die Zellkultur 11 in Ruhe lassen möchte. Auf diese Weise entsteht kein zu großer Totraum über dem System und es erhöht sich gleichzeitig auch der Diffusionsaustausch. Wie ersichtlich ist die Abdeckplatte 17 auch mit Kanälen 18 oder einer Wabenstruktur versehen, welche an den seitlichen Rändern offen ist, damit eine Luft- bzw. Sauerstoffzuführung über die Kanäle 18 und von da aus durch die luftdurchlässige Folie 2 zu der Zellkultur 11 gegeben ist. Eine Verbindung der Abdeckplatte 17 mit der Trägerplatte 1 und auch eine dichte Verbindung der Folie 2 und - gegebenenfalls der Trägerfolie 3 - an den Rändern kann durch nicht dargestellte Clipse oder eine entsprechende Schraubverbindung erfolgen.

Die Abdeckplatte 17 nach der Fig. 2 kann auch derart ausgebildet werden, daß die Kanäle 18 auf einer Zufuhrseite mit einem Sauerstoffträger (nicht dargestellt) verbunden und an den übrigen Rändern geschlossen sind. Auf diese Weise läßt sich eine eigene Sauerstoffversorgung für die Zellen schaffen. Der Vorteil einer derartigen autarken Vorrichtung ist, daß man dann Luft mit einer bestimmten Temperatur und/oder Feuchtigkeit zuführen kann und auf diese Weise eine eigene "Biosphäre" schaffen kann. Ein weiterer Vorteil dieser Ausgestaltung besteht darin, daß man im Bedarfsfalle auch Luft mit Überdruck eingeben kann, womit man den Massentransfer und den Partialdruck erhöhen kann. Grundsätzlich wäre es selbstverständlich auch möglich die Sauerstoffkonzentration entsprechend zu erhöhen, aber bestimmte Zellkulturen reagieren negativ auf einen zu hohen Sauerstoffgehalt. Eine Behandlung unter einem erhöhten Druck kann sich jedoch - in Abhängigkeit von den zu behandelnden Zellkulturen - positiv auswirken.

Eine weitere Ausgestaltung kann darin bestehen, daß man in die Zellkammer 11a eine Netzstruktur gibt. Knochenmark wächst bekanntlich im Knochen und um das Ergebnis zu verbessern kann man in den Innenraum knochenähnliche Strukturen oder entsprechend eine Art Netzstruktur oder eine extrazelluläre Matrix geben, wodurch die Zellen eine Art Mikroumgebung erhalten, die der normalen Umgebung nahekommt. Eine derartige Netzstruktur kann man frei in den Zellkammerraum 11a eingeben oder diese bereits in die Folie 2 oder die Trägerfolie 3 einarbeiten. So könnte man z.B. Kalkstrukturen (Tricalciumphosphat) in die Zellkammer 11a eingeben.

Damit die elastische Folie 2 und gegebenenfalls bei Verwendung der Trägerfolie 3 die Folien nicht reißen, können sie im Randbereich entsprechend verstärkt sein. In diese Verstärkung können gegebenenfalls auch Zulauf- und/oder Ablaufanschlüsse eingeschweißt werden, welche dann den Zulaufanschluß 4 und den Rücklaufanschluß 10 der Trägerplatte 1 ersetzen. Bei Verwendung einer rahmenartigen Trägerplatte 1a, wie in der Fig. 4 dargestellt, ergeben sich mit der Trägerfolie 3 und der elastischen Folie 2 Zellkulturräume 11a. Ebenso wie die Ausgestaltung nach den Figuren 1 bis 3 lassen sich rahmenartige Trägerplatten 1a mit den daran befestigten Folien 2 und 3 beliebig übereinander stapeln, wobei man in diesem Falle in die Folien 2 und 3 - wie vorstehend erwähnt - die Zulauf- und Ablaufanschlüsse einschweißen wird.

Die einzelnen Vorrichtungen mit ihren Trägerplatten 1 können auch in Form eines Stecksystemes zu beliebig langen Einheiten miteinander verbunden werden. In diesem Falle dienen entsprechende Bohrungen und Stifte zur Verbindung. Hierzu ist es dann lediglich erforderlich, daß man die einzelnen Zulaufanschlüsse 3 und die Ablaufanschlüsse 10 entsprechend miteinander verbindet.

Statt einer Trägerplatte 1a in Rahmenform, wie in der Fig. 4 dargestellt, kann eine rahmenartige Trägerplatte 1a auch durch einen Spannrahmen oder einen Spanndraht in beliebiger Form, z.B. in rechteckiger, quadratischer oder Kreisform ersetzt werden, mit welchem die beiden Folien 2 und 3 verbunden sind. Mit anderen Worten: Die Rahmenkonstruktion nach der Fig. 4 kann zu einem Kreis gebogen werden, wie es in der Fig. 7 prinzipmäßig dargestellt ist oder auch in eine Spiralform, wie es aus der Fig. 8 ersichtlich ist, wobei das Material hierzu formbar bzw. elastisch sein kann. Durch die Ausgestaltungen nach den Figuren 7 und 8, insbesondere der Fig. 7, ergibt sich ein flexibles System in Form einer Röhre mit einer jeweils einer Trägerplatte bzw. einem Trägerring 1b und dazwischenliegenden Folien 2 und 3 in deren Innerem sich die Zellkultur 11a befindet. Wenn dabei als Ausgangsmaterial eine rahmenartige Trägerplatte 1a gemäß Fig. 4 gewählt wird, auf der die beiden Folien 2 und 3 befestigt sind, liegen nur an beiden Stirnseiten der Röhre Versteifungsringe vor, die durch zwei nebeneinander liegende Verbindungsleisten entlang der Mantellinie miteinander verbunden sind. Ansonsten ist die Umfangswand der Röhre flexibel. Gegebenenfalls können die beiden Verbindungsleisten auch entfallen. In diesem Falle hat man nur zwei Versteifungsringe an beiden Stirnseiten.

Die in der Fig. 7 dargestellte Struktur in Ringform stellt nur eine grundsätzliche Ausgestaltung dar und läßt sich in vorteilhafter Weise aus dieser Grundform abwandeln. Ein mögliches Einsatzgebiet ist z.B. ein Herzkranzgefäß-Bypass, wobei bisher dieser Bypass von einer Beinvene des Patienten entnommen werden mußte. Nachteilig dabei ist jedoch, daß sich Venen häufig nach mehreren Jahren wieder verschließen, da diese im Bereich der arteriellen Strömungen am Herz den höheren Druck nicht aushalten.

Mit einer erfindungsgemäßen Ausführungsform nach der Fig. 7 läßt sich auf diese Weise mit den eigenen Zellen des Patienten ein Gefäß züchten, wobei zwischen die Folien 2 und 3 in den Zellkulturraum 11a Bindegewebszellen zusammen mit einem Kollagengemisch injiziert werden. Anschließend läßt man die Zellen für eine bestimmte Zeit bis zum Gebrauch wachsen.

Eine andere Einsatzmöglichkeit besteht für neuronale Zellen. Auch diese Zellen kann man in die auf diese Weise geschaffene Röhre geben, wobei jedoch in bestimmten Kulturphasen vermieden werden soll, daß sie anwachsen. Die Röhre dient dabei lediglich dazu, daß sich die neuronalen Zellen vermehren, so daß man sie anschließend wieder entnehmen und für den Nervenkranken verwenden kann.

Fig. 9 zeigt in Prinzipdarstellung in der Draufsicht eine Röhre mit drei nach innen gezogenen "Segeln" 19. Durch diese Ausgestaltung wird eine Stabilitätsstruktur geschaffen, die als Herzklappe dienen kann.

In der Fig. 10 ist eine Stabilitätsstruktur im Längsschnitt dargestellt, die eine Herzklappe bilden kann. Wie ersichtlich weist die Röhre nach innen gezogene Einstülpungen 20 auf. Je nach Verwendungszweck einer derartigen Röhre können die Einstülpungen auch so weit nach innen gehen, daß sie sich berühren bzw. daß sie sogar eine Querverbindung in dem ringförmigen Zellkulturraum 11a bilden.

Bei der Herstellung dieser Form können z.B. Stabilisierungsringe 21 über und unter den Einstülpungen 20 angeordnet werden. Zur genauen Formbestimmung können auch über die Einstülpungen 20 innenseitig Klammern 22 gesetzt werden (gestrichelt dargestellt). Die Trägerfolie 3 als Träger auf der Außenseite und auch die Trägerfolie 3 auf der Innenseite sind luftdurch-

lässig und formbar. Jeweils zwischen den äußeren Folien 3 und den auf geringen Abstand dazu angeordneten elastischen Folien 2 fließt Nährmedium. Die elastischen Folien 2 sind in diesem Falle zusätzlich mikroporös, so daß die Nährstoffe bzw. das Nährmedium in den innen liegenden ringarten Zellkulturraum 11 mit den darin angeordneten Zellen 11 diffundieren kann.

Der Zellkulturraum 11a, in welchem die den jeweiligen Anwendungsfall entsprechenden Zellen 11 eingebracht sind, kann auch durch eine Struktur mit mikroporösen Zellen nach Art eines "Spritzgußverfahrens" gebildet werden. In diesem Falle stellt die Struktur praktisch das Trägerteil für die Zellen 11 dar und entspricht in seiner Form der späteren Anwendungsform, z.B. einer Herzklappe oder auch einer Blase als Ersatz der eigenen Blase bei Tumorpatienten.

Im letzteren Falle hat man eine Art Doppelluftballon mit einem Ein- und Ausgang, welcher elastisch ist und in dem man in einer bestimmten Form die Zellen züchten kann. Dabei ist die jeweils äußere Folie 3 gasdurchlässig, wobei sie gegebenenfalls elastisch ist und innen befindet sich die mikroporöse Folie 2.

Die Struktur kann z.B. aus einem Gehäuse bestehen, das entweder biodegradabel ist und damit zerfällt, oder es besteht aus einem Kunststoff, der später wieder entfernt wird. Das Gehäuse sollte flexibel sein und in seiner Form der Form des zu ersetzenden oder zu bildenden Organes entsprechen. Man gibt für die Zellen auf diese Weise praktisch eine Form vor, in die man dann eine Bindegewebsmatrix bzw. Kollagenmatrix mit Zellen injiziert. Das Ganze verfestigt sich dabei und kann Netzwerke bilden, auch in dreidimensionalem Wachstum, und dabei die Matrix resorbieren.

Als weitere vorteilhafte Anwendung kann man die mikroporöse Folie 2 auch aus einem Material herstellen, das sich selbst nach einer bestimmten Zeit auflöst. Dies gilt z.B. für bestimmte Polymere, wie z.B. Polylaktid, Alkanoate oder Butyrate, welche sich z.B. nach mehreren Wochen auflösen. Wenn z.B. Bindegewebszellen in einer Matrixstruktur das Gerüst gebildet haben, dann muß die "Innenauskleidung" vieler Organe angebracht werden, was mit Endothel-Zellen gemacht wird. Diese Endothel-Zellen können z.B. aufgebracht werden, wenn sich die mikroporöse Folie 2 aufgelöst hat. In diesem Falle ist der Zellkulturraum 11a ja immer noch separat zuströmbar. Im allgemeinen wird man die Zellen 11 zusammen mit einer Matrix, z.B. Kollagen, in den Zellkulturraum 11a eingebracht, wo sie sich entsprechend vermehren können. Bei einem Ersatz für eine Herzklappe sind in diesem Falle die Endothel-Zellen innen und die Bindegewebszellen mit Muskulatur außen aufgebracht. Dies bedeutet, auf die Folie 2 sind auf der zum Röhreninneren gerichteten Seite die Endothel-Zellen aufgebracht. Ebenso ist es möglich die Folie 2 auflösbar auszugestalten oder herausnehmbar.

Dadurch, daß die Folien elastisch sind, wird für die zu kultivierenden Zellen 11 eine weitgehend natürliche Umgebung geschaffen, denn ein Herz pumpt, womit es entsprechend zu Druckwellen kommt, welche sich auf die Zellen 11 entsprechend auswirken.

Wenn fertig kultiviert ist, können die Ringe 21 und gegebenenfalls die Klammern 22 abgenommen werden, denn dann ist die Einheit selbst stabil und man kann sie an der gewünschten Stelle einsetzen.

Fig. 11 zeigt eine andere Möglichkeit eine Herzklappe oder auch eine andere Struktur herzustellen. In diesem Falle be-

findet sich die Röhre mit den Einstülpungen 20 in einem Behälter 23, in welchem sich Nährmedium befindet. Der Behälter, der mit nicht dargestellten Zu- und Ablauföffnung versehen ist, kann mit einem Deckel 24 versehen sein, wobei die Struktur in dem Nährmedium "schwimmt" oder darin aufgehängt ist. In diesem Falle können die beiden äußeren Folien 3 entfallen und es sind nur die mikroporösen elastischen Folien 2 vorhanden, zwischen denen sich der ringförmige Zellkulturraum 11a mit den Einstülpungen 20 befindet. In den Behälter 23 wird auch Sauerstoff bzw. Luft eingebracht, wobei für eine gleichmäßige Bewegung bzw. Verteilung ein nicht näher dargestelltes Rührorgan 25 im Behälter 23 angeordnet sein kann.

In Vereinfachung der in der Fig. 11 dargestellten Struktur bzw. des daraus resultierenden Verfahrens kann die äußere Folie 3 auch nur luftdurchlässig ausgebildet sein und wirkt als Trägerfolie. Die Zufuhr von Nährmedium aus dem Behälter erfolgt in diesem Falle dann nur von innen her über die mikroporöse innere Folie 2.

Grundsätzlich kann das Zellkultur- und Zellbehandlungsverfahren bei allen vorstehend genannten Ausführungsbeispielen in dem Zellkulturraum 11a auf folgende Weise ablaufen:

In einem ersten Schritt wird extern die Matrix bzw. das Kollagen vorbereitet. Anschließend wird die Matrix bzw. das Kollagen in den Zellkulturraum 11a injiziert. Die Strukturen bzw. der Zellkulturraum 11a kann entweder mit Zellen bereits vorbeschichtet sein oder die Zellen 11 werden zusammen mit dem Kollagen bzw. mit der Matrix direkt injiziert.

In einem nächsten Schritt erfolgt die Modellierungsphase bzw. die Zellvermehrung, wobei die Zellen 11 die Matrix entsprechend umbauen. Anschließend kann man - falls erforderlich -

weitere Zelltypen zugeben, z.B. wenn sich entsprechend eine Folie aufgelöst oder man diese entfernt hat.

Ein weiterer sehr großer Vorteil der Erfindung besteht darin, daß man anschließend die fertige Struktur einfrieren kann. Dies ist bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung und dem erfindungsgemäßen Verfahren im Unterschied zu anderen Reaktorsystemen möglich, denn es herrscht praktisch ein Dünnschichtsystem vor. Bei dem Einfrieren der Zellen und der dabei erfolgenden Kristallbildung wird Wärme in den Zellen freigesetzt. Dieser Wärmefreisetzung muß gegengekühlt werden. Bei den bekannten Reaktorsystemen ist es deshalb nicht möglich, die Zellen 11 koordiniert einzufrieren. Im vorliegenden Falle ist es jedoch aufgrund des Dünnschichtsystemes möglich, alle Zellen mehr oder weniger gleichmäßig einzufrieren, wobei der Entstehung der Wärme bei der Kristallbildung gezielt und gleichmäßig entgegengewirkt werden kann. Auf diese Weise lassen sich die Zellen 11 koordiniert einfrieren, wobei man praktisch der Wärmebildung durch eine einfache Zugasung, z.B. von Stickstoff, entgegenwirken kann.

Derart eingefrorene Strukturen können somit beliebig lange für eine spätere Verwendung vorgehalten werden und/oder auch entsprechend gekühlt in eine Klinik transportiert und dort kurzfristig nach Auftauen und gegebenenfalls nach einem nochmaligen Nachspülen, implantiert werden. Diese bedeutet, die erfindungsgemäße Vorrichtung und das Verfahren ist nicht nur ein Kultivierungssystem, sondern auch ein Transportsystem, wobei die Sterilkette nicht unterbrochen wird.

Bei einem Einsatz für Leberzellen ist auch ein extra koporaler Anschluß bzw. Verwendung möglich.

In einer sehr vorteilhaften Weise lassen sich mit der Erfindung auch Hautzellen bilden bzw. vermehren. In diesem Falle werden Bindegewebszellen der Haut z.B. mit Kollagen in die Zellkultur 11a - wie in Fig. 3 dargestellt - eingebracht. In einer zweiten Phase werden die Keratinozyten, d.h. verhornende Zellen, die die Epidermis ausmachen, aufgebracht, so daß das ganze mehrschichtig nach innen wächst. Nach Abschluß des Kulturverfahrens kann man die Folie aufschneiden oder abziehen. Damit eine Sterilität gegeben ist, kann man die Struktur auch in ein Gehäuse geben oder als kleine geschlossene Box ausbilden. Auf diese Weise läßt sich kontrolliert Haut züchten.

Im Unterschied zum Stand der Technik erfolgt dabei der Aufbau der Haut in einer Weise, wie sie später aufgebracht werden muß. Dies bedeutet, die Verhornung erfolgt außen und nicht innen, wobei man in diesem Falle nicht zuerst das Bindegewebe herstellt, sondern zuerst die Epidermis-Zellen direkt auf die Folie aufbringt und anschließend das Kollagen injiziert.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung können auch embryonale Zellen verwendet werden. Embryonale Zellen sind Zellen, die noch nicht ihre eigene Gewebsexpressionsmuster entwickelt haben. Durch die Mikroumgebung und die Matrix besteht dann die Möglichkeit, daß diese Zellen in eine Gewebsexpression übergeführt werden, die der terminalen Differenzierung, d.h. der endgültigen Differenzierung entspricht. Eine Beschichtung kann mit Peptiden erfolgen.

Als Folien können PTFE, Silikon, Polylaktid, Polyhydroxyalkanoat und Polyhydroxybutyrate verwendet werden. Wesentlich ist, daß sie ganz allgemein zu der Gruppe der biodegradablen Polymere gehören, d.h. Strukturen, die entweder

hydrolytisch oder enzymatisch abgebaut werden können, womit diese implantierbar sind.

Ein wesentliches Merkmal aller Trägerstrukturen bzw. der verschiedenen Ausgestaltungen der Träger 1 ist, daß sie formbar bzw. modellierbar sein können. Dadurch können neben Volumenveränderungen des Systems bzw. des Zellkulturraumes auch die Geometrie des Bioreaktors bzw. der Vorrichtung verändert werden. Das System kann auch im Betrieb durch Perfusionsdruckänderungen aufgrund der elastischen Eigenschaften der verwendeten Materialien in der Form reversibel verändert werden (Memory-Effekt).

In den Zellkulturraum 11a können Zellen 11 mit Matrix eingebracht werden, die durch den Zellkulturraum 11a modellierbar sind.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Vorrichtung zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen mit folgenden Merkmalen:
 - 1.1 auf einem Träger (1) ist ein formbarer Zellkulturraum (11a) angeordnet, der durch den Träger (1) auf einer Seite oder eine auf den Träger (1) gelegte Trägerfolie (3) und eine darüber angeordnete Zellkulturfolie (2) auf der anderen Seite gebildet ist,
 - 1.2 die Zellkulturfolie (2) ist derart elastisch, daß das Endvolumen des Zellkulturraumes (11a) ein Vielfaches seines Ausgangsvolumens einnehmen kann,
 - 1.3 der Zellkulturraum (11a) ist mit jeweils einer Zu- und Ablaufleitung (4,10) versehen und
 - 1.4 über den Träger (1) oder die Trägerfolie (3) und/oder die Zellkulturfolie (2) ist Sauerstoff oder Luft in den Zellkulturraum (11a) einbringbar.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Zellkulturraum (11a) durch den Träger (1) und/oder die Trägerfolie (3) und die Zellkulturfolie (2) in Dünnschichtstruktur ausgebildet ist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Träger (1) formbar ist.
4. Vorrichtung nach Anspruch 1, 2 oder 3,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Träger (1) mit der Zulauf- und der Ablaufleitung (4,10) versehen ist, die jeweils mit in der Oberseite des Trägers (1) angeordneten Rinnen (5,6,8) zur Vertei-

lung einer Zellkultur (11) in dem Zellkulturraum (11a) in Verbindung stehen.

5. Vorrichtung nach Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
sich von einer Zulaufrinne (5) aus eine Querrinne (6) wenigstens annähernd über die Breite des Zellkulturraumes (11a) erstreckt, durch die eine wenigstens annähernd gleichmäßige Verteilung der Zellkultur (11) und ein wenigstens annähernd gleichmäßiger Fluß durch den Zellkulturraum (11a) erfolgt.
6. Vorrichtung nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Querrinne (6) mit zur Oberseite des Trägers (1) führenden Zungen (7) versehen ist, deren Längen mit zunehmendem Abstand von der Zulaufrinne (5) aus in ihrer Erstreckung und/oder ihrer Breite zunehmen.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 5 und 6,
dadurch gekennzeichnet, daß
sich eine Ablaufrinne (8) in dem Träger (1) in Ablaufrichtung verbreitert.
8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7
dadurch gekennzeichnet, daß
der Träger (1) und/oder die Trägerfolie (3) und/oder die Zellkulturfolie (2) auf ihren zu dem Zellkulturraum (11a) gerichteten Seiten mit Strukturierungen versehen sind.
9. Vorrichtung nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet, daß

die Strukturierung durch Vertiefungen (12) gebildet sind.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9,
dadurch gekennzeichnet, daß
zwischen den Vertiefungen (12) Wände (13) mit Durchbrechungen versehen sind.
11. Vorrichtung nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Vertiefungen (12) und die Wände (13) eine Art Labyrinth bilden.
12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
über der Zellkulturfolie (2) eine Abdeckplatte (17) angeordnet ist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 12,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Abdeckplatte (17) auf der zu der Zellkulturfolie (2) zugewandten Seite mit Kanälen und/oder Aussparungen (18) versehen ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 13,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Abdeckplatte (17) an ihren Rändern luftdicht abgeschlossen ist und die Kanäle oder Bohrungen (18) mit einer Luft- oder Sauerstoffzuführung versehen sind.
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, daß

der Träger (1) über dem Zellkulturraum (11a) angeordnet ist, und daß die Zellkultur (11) im Anwachsstadium an der Zellkulturfolie (2) adhäriert ist.

16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß ein rahmenartiger Träger (1a) vorgesehen ist.
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (1,1a,1b) in Röhrenform oder Spiralform geformt ist.
18. Vorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (1) mit stirnseitigen Trägerringen (1b) versehen ist, zwischen denen der Zellkulturraum (11a) gebildet ist.
19. Vorrichtung nach Anspruch 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Zylindermantel des röhrenförmigen Zellkulturraumes (11a) durch die Trägerfolie (3) und die Zellkulturfolie (2) gebildet ist.
20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß in den Zellkulturraum (11a) Zellen mit Matrix eingebracht sind, die durch den Zellkulturraum (11a) modellierbar sind.
21. Vorrichtung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß

der Zellkulturraum (11a) durch die Struktur in eine Form gebracht ist, die wenigstens annähernd der späteren Anwendungsform entspricht.

22. Vorrichtung nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Struktur wenigstens annähernd die Form einer Herzklappe, einer Blase oder einem Gefäß entspricht.
23. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 20 bis 22,
dadurch gekennzeichnet, daß
in den Zellkulturraum (11a) Bindegewebszellen eingebracht sind.
24. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 20 bis 22,
dadurch gekennzeichnet, daß
in den Zellkulturraum (11a) Hautzellen eingebracht sind.
25. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 17 bis 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
in die Röhrenform des Zellkulturraumes (11a) Einstülpungen (20) eingebracht sind.
26. Vorrichtung nach Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Einstülpungen (20) durch Klammern (22) gebildet sind.
27. Vorrichtung nach Anspruch 25 oder 26,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Einstülpungen (20) mit Stabilisierungsringen (21) versehen sind.

28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 20 bis 27,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Struktur durch eine Spritzgußform gebildet ist.
29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 20 bis 28,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Struktur entfernbar oder auflösbar ausgebildet ist.
30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 29,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Träger (1) oder die Trägerfolie (3) und die Zell-
kulturfolie (2) mit der dazwischenliegenden Zellkultur-
kammer (11a) in einem Behälter (23) angeordnet ist, wo-
bei sich in dem Behälter (23) Nährmedium befindet.
31. Vorrichtung nach Anspruch 30,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (23) mit einem Deckel (24) versehen ist.
32. Vorrichtung nach Anspruch 30 und 31,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter mit einem Rührorgan (25) versehen ist.
33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 30 bis 32,
dadurch gekennzeichnet, daß
in dem Behälter (23) ein ringförmiger Zellkulturraum
(11a) eingebracht ist, der auf einer Seite von der Trä-
gerfolie (3), welche luftdurchlässig ist, und der auf
der anderen Seite durch die Zellkulturfolie (2), die
mikroporös ausgebildet ist, umgeben ist.
34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 20 bis 33,
dadurch gekennzeichnet, daß

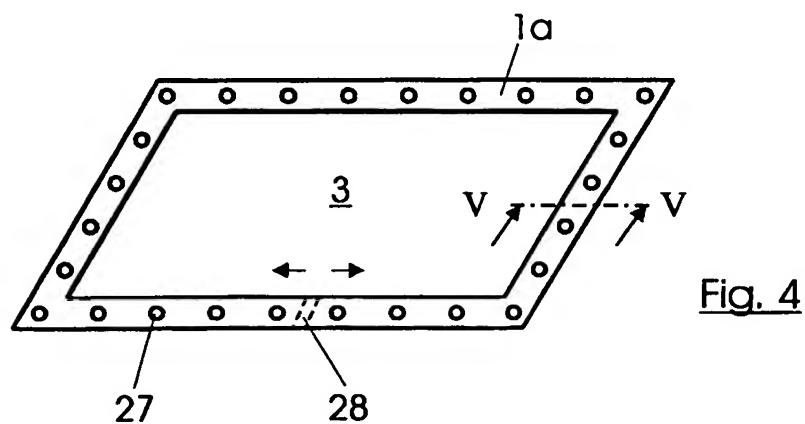
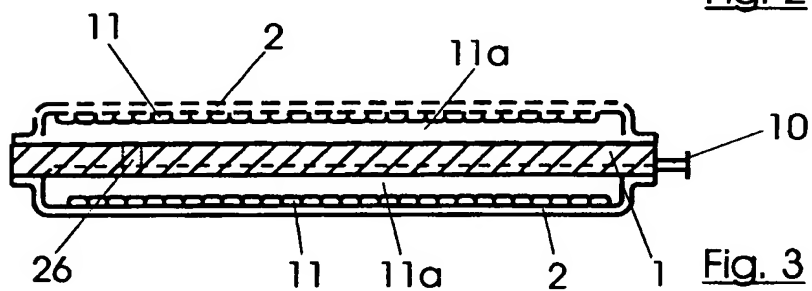
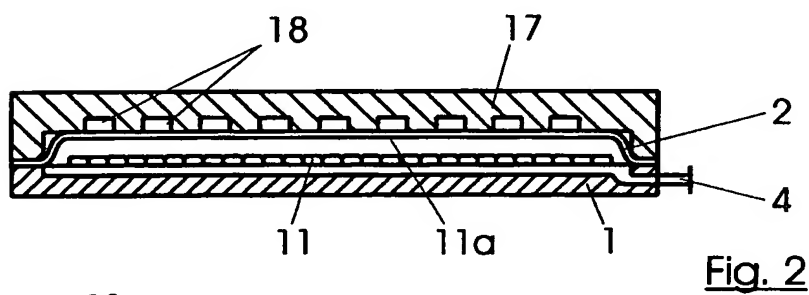
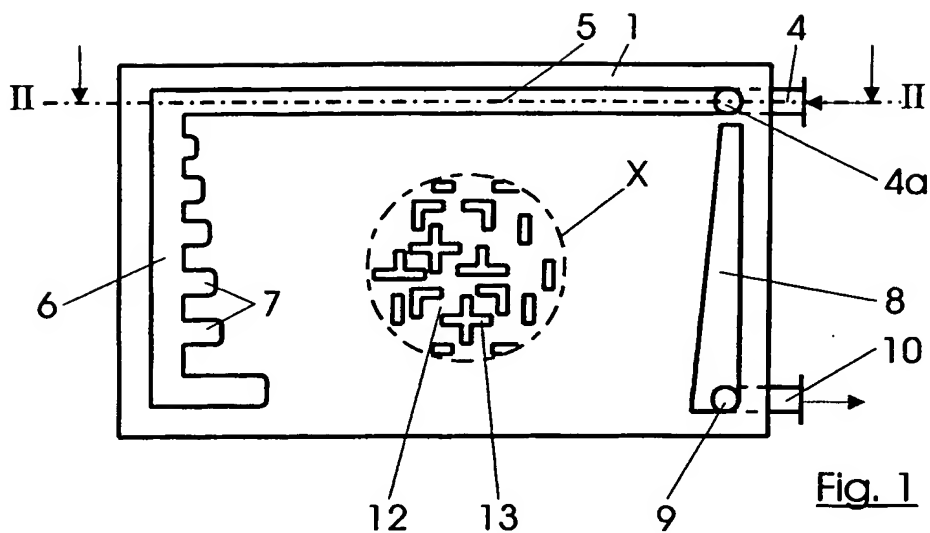
mehrere Einheiten in einem Bioreaktor (14), der in Form eines Hochregales ausgebildet ist, angeordnet sind.

35. Vorrichtung nach Anspruch 34,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hochregal (14) mit einer Reihe von Einschubfächern
(15) versehen ist, in die die Einheiten eingeschoben
sind.
36. Vorrichtung nach Anspruch 34 oder 35,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Bioreaktor (14) allseits geschlossen ist.
37. Vorrichtung nach Anspruch 34, 35 oder 36,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Bioreaktor (14) mit Rädern (16) versehen ist.
38. Verfahren zum Züchten und/oder Behandeln von Zellen in
einer Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprü-
che 1 bis 37,
dadurch gekennzeichnet, daß
in einem ersten Schritt eine Matrix oder Kollagen in
den Zellkulturraum (11a) injiziert wird, wobei bereits
der Zellkulturraum (11a) mit Zellen (11) vorbeschichtet
worden ist oder die Zellen (11) zusammen mit dem Kolla-
gen oder der Matrix injiziert werden, und in einem
zweiten Schritt die Zellvermehrung stattfindet, wobei
die Zellen (11) die Matrix oder das Kollagen umbauen.
39. Verfahren nach Anspruch 38,
dadurch gekennzeichnet, daß
in einem dritten Schritt weitere Zelltypen zugegeben
werden, wenn sich die Trägerfolie (3) und/ oder die

Zellkulturfolie (2) aufgelöst hat/haben oder diese entfernt worden ist/sind.

40. Verfahren nach Anspruch 38 oder 39,
dadurch gekennzeichnet, daß
vor oder nach Beendigung der Zellvermehrung die gesamte
Struktur eingefroren wird.

1/3



2/3

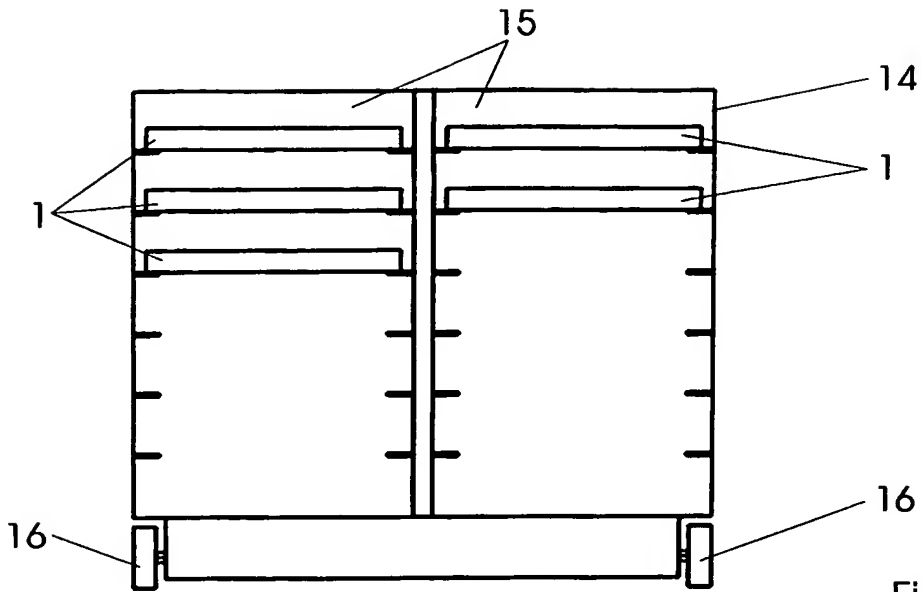


Fig. 6

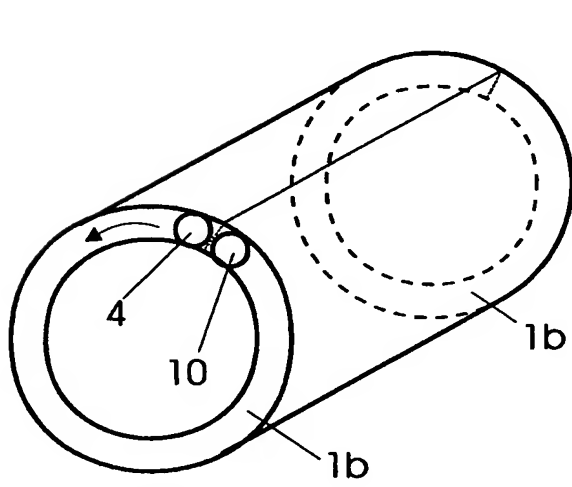


Fig. 7

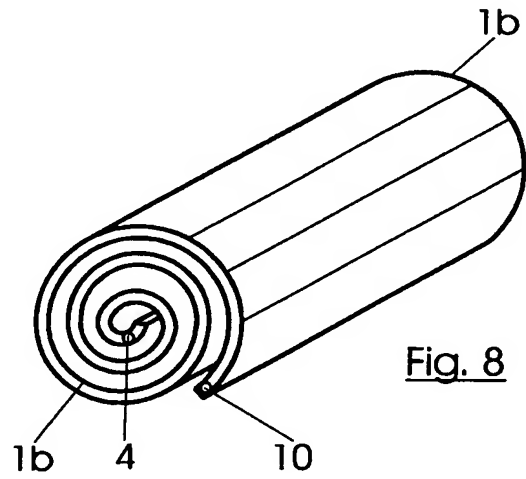


Fig. 8

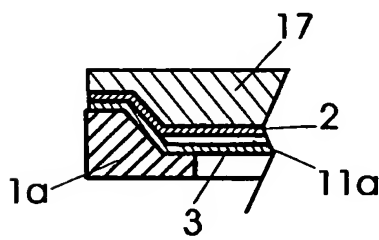


Fig. 5

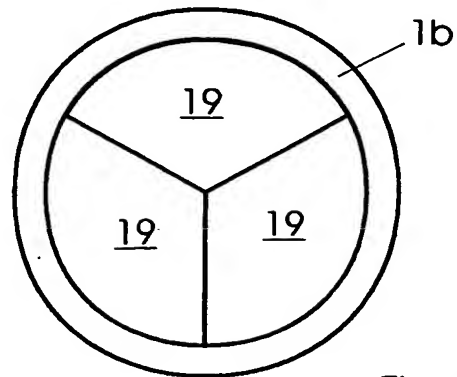
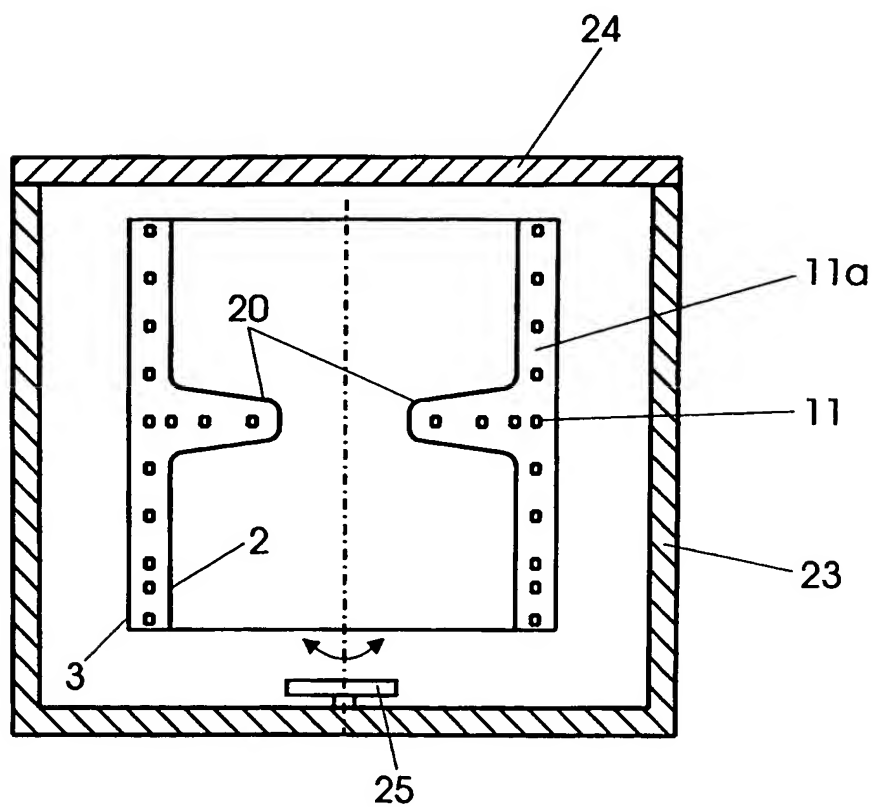
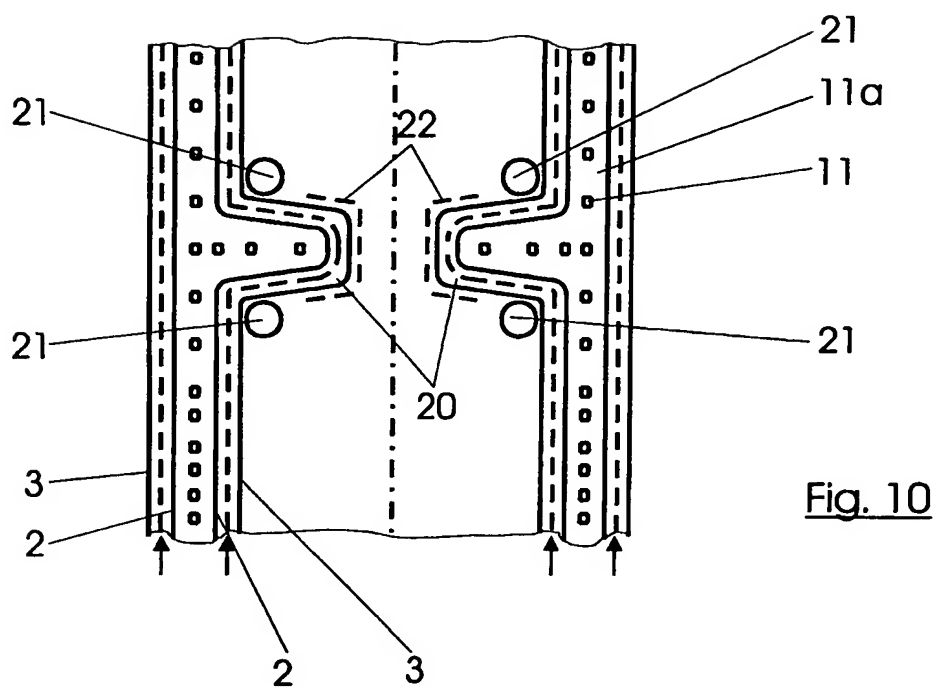


Fig. 9

3/3



TRANSLATION OF
WO 01/09282
WO 01/09282

2/PRTS

0/048440
531 Rec'd PCT/PTL 28 JAN 2002
PCT/EP00/06153

Device for culturing and/or treating cells

The invention relates to a device for culturing and/or treating cells of the type defined in detail in the precharacterizing clause of claim 1. The invention also relates to a method for culturing and treating cells.

DE 42 06 585 C2 describes a device for mass culture of cells, especially hepatocytes, on plate-like cell culture carriers, where at least part of the surfaces of the cell culture carriers is gas permeable. Oxygen can be passed into the interior of the cell culture carriers, and a collagen layer covering the cells is applied to the cell culture carrier. The next cell culture carrier is arranged directly or a small distance above the collagen layer. Culture medium can be passed into the collagen layer or into the space between the collagen layer and the next cell culture carrier. The device is constructed like a sandwich. A disadvantage of this device is that cell chambers which are precisely defined and have particular volumes are always present. In addition it is difficult to observe the cells in the cell chambers in order to ascertain any changes or developmental states.

DE 42 22 345 A1 describes a method for culturing a cell type in a coculture method with liver cells, where liver cells are cultured on a support in a sandwich method. A first matrix layer is arranged between the liver cells and the support to anchor the liver cells, and a second matrix layer is located above the liver cells.

WO 95/17526 describes a method for culturing skin by a so-called air lift method. This entails gas or sterile air being brought into a cell growth chamber. The cells in this case are located on a semipermeable membrane. Basal cells lying on the semipermeable membrane are supplied with nutrients through the medium chamber by

- 2 -

diffusion. The basal cells show multilayer growth toward the air phase. However, the disadvantage in this case is that with the previously disclosed method the skin structure is "upside down". This means that other
5 cell types such as, for example, connective tissue cells (fibroblasts) either must be initially seeded and time allowed to elapse, or the skin must be mechanically raised. However, this may lead to damage to the sensitive structures.

10

DE 197 19 751 A1 relates to a device for culturing and/or treating cells, where a cell chamber is arranged on a gas-permeable carrier. The cell chamber is formed by a gas-permeable, non liquid-permeable film which is
15 laid on the carrier, and by a second microporous film, which is arranged over the first film or is integral with the latter. At least one of the two films is elastic such that the final volume in the cell chamber can be many times its initial volume. The cell chamber
20 is provided with at least one supply and/or discharge line. This previously disclosed device is particularly suitable for a mass culture system. In addition, it can be adapted to the particular requirements since it is possible to begin with a very small volume and a low
25 number of cells which are being treated or cultured in the cell chamber, and then to increase the starting volume many times during the treatment. It is also possible for one or more units to be placed, one above the other in the form of a sandwich, in a conventional
30 incubator.

The present invention is based on the object of improving a device as disclosed in DE 197 19 751 A1 further, in particular a further simplification and an even
35 greater variability of the device.

This is achieved according to the invention by the features mentioned in claim 1.

A method of the invention is indicated in claim 37.

One of the essential advantages of the device of the invention and of the method of the invention is that a
5 very shallow cell culture chamber with minimal layer thickness is obtained in this way, with the outer walls of the cell culture chamber being at least partly gas permeable. A large variability of the device together with a simple design is achieved through the
10 moldability of the cell culture chamber. A further advantage is that moldability of the cell culture chamber in virtually any way desired is possible owing to the geometry of the device.

15 The frames and stability structures indicated in the dependent claims for forming the cell culture chamber and the cell cultures make even further moldability possible, in particular both before and during the treatment of the cells.

20 A further improvement of the invention may comprise the frames and/or the stability structures themselves also being moldable, in particular both before and during the culturing method.

25 A further considerable advantage of the achievement of the invention is that the complete unit with cells can be frozen and stored in a defined shape in a controlled manner. This makes it possible to use the device of the
30 invention also as transport system.

As is evident, one of the considerable differences compared with the prior art, where only flexible cell culture chambers or films are present, is now the
35 achievement not only of the possibility of flexibility but also moldability or modelability of the cell culture chamber and its geometry. It is possible in this way to produce virtually any shapes and designs of the cell culture chamber and thus practice-oriented

results.

If the cell culture chamber is in the form of a thin layer structure in a design of the invention, then very
5 small oxygen diffusion pathways are present, especially at the start of the culturing.

Advantageous designs and further developments are evident from the dependent claims and from the
10 exemplary embodiments which are described in principle hereinafter on the basis of the drawing.

This shows in

15 Fig. 1 a diagrammatic representation of a top view of a carrier plate of the device of the invention;

Fig. 2 a section along the line II-II in Fig. 1 with a flexible film and a cover plate;

20 Fig. 3 an arrangement of the device shown in Fig. 2 (without cover plate) rotated by 180°;

25 Fig. 4 a perspective view of a frame-like carrier plate;

Fig. 5 a cross section along line V-V in Fig. 4 in enlarged representation;

30 Fig. 6 an outline representation of a bioreactor;

Fig. 7 a perspective representation of a carrier plate which is curved to form a circle;

35 Fig. 8 a perspective representation of a carrier plate which is curved to form a spiral;

Fig. 9 a top view of a structure as heart valve;

- 5 -

Fig. 10 a structure as heart valve in lengthwise section; and

5 Fig. 11 a structure for forming a heart valve in a container.

In a basic design, the device has a moldable carrier plate, which is principally composed of plastic, as carrier 1. A gas-permeable and flexible plastic film 2
10 is applied to the carrier plate 1 and is tightly connected to the edges of the carrier plate 1.

The carrier plate 1 is provided on one end face in the edge region with an inflow connector 4 through which is
15 fed, for example, nutrient medium which opens from an internal bore 9 which is connected to the inflow connector 4 into an inflow channel 5 which runs along a side wall of the carrier plate 1. The nutrient medium flows at the side in the inflow channel 5 which is
20 inlet into the surface of the carrier plate 1 in the direction of the end face opposite to the inflow side. The inflow channel 5 opens on this end face into a transverse channel 6 which extends at least approximately over the entire width of the carrier plate 1.
25 Projections 7 which have an inclined upward course lead from the transverse channel 6 to the upper side of the carrier plate 1.

As is evident from Fig. 1, the length and, where
30 appropriate, also the width of the projections 7 increases as the distance from the inflow channel 5 increases, so that the nutrient medium is uniformly distributed over the surface of the carrier plate 1 and, in this way, a uniform flow is moved toward an
35 outflow channel 8, which likewise has a transverse course. In order to generate a uniform flow here too, and a correspondingly uniform outflow, the outflow channel 8 can likewise be provided with projections 7 which lie as mirror images thereto. An alternative

- 6 -

possibility is also - as represented in Fig. 1 - to provide a transverse channel 8 which continuously widens toward an outflow bore 9. The outflow bore 9 is connected via a bore in the interior of the carrier plate 1 through an outflow connector 10 which is placed on the carrier plate 1. The shape of the two transverse channels 6 and 8 and the course of the projections 7 is indicated only by way of example. The only essential point is that a uniform and continuous flow of the nutrient medium results over the entire width of the carrier plate 1.

The flexible film 2 can be connected to the carrier plate 1 at the edges in any suitable manner, for example by clamping, bonding, welding or bolting. A cell culture 11 can be placed on the carrier plate 1 together with the nutrient medium or else with another carrier liquid in a cell culture chamber 11a which is formed by the carrier film 3 and the cell culture film 2 as thin-layer structure.

It is, of course, also possible to distribute the cell culture 11 on the carrier plate 1 beforehand, and this can likewise be introduced via the inflow connector 4. The cell culture 11 settles directly on the surface of the carrier plate 1 in accordance with the embodiment depicted in Fig. 2. To avoid shear stress and flow stress, the surface of the carrier plate 1 can be structured in such a way that the cells become lodged in small depressions 12 in the surface. For this purpose, the surface of the carrier plate 1 can have a checkerboard structure, for example, with corresponding depressions 12 and side walls 13 raised as far as the surface of the carrier plate 1. This structure is evident in the enlargement depicted in the broken-line circle X in Fig. 1. In order to create an appropriate connection between the individual depressions 12 and thus the cells, the walls 13 can also be provided with perforations resulting in a type of labyrinth. It is

- 7 -

also possible for the films per se to be profiled, for example, in checkerboard fashion, or contain glass fibers or another material which define a particular structure which are possibly altered appropriately by fusion processes.

It is evident from Fig. 4 that the carrier plate 1 may also consist only of a frame 1a to which the flexible film 2 is connected. Below the flexible film 2 and likewise connected to the frame-like carrier plate 1a, the space between the frame can be filled by a carrier film 3 which forms the outer film. The carrier film 3 may, but need not necessarily, be flexible and/or gas permeable. Oxygen supply to the cell culture 11 takes place both in the example shown in Fig. 2 and in that shown in Fig. 4 via the elastic film 2.

The frame 1a can be provided with a multiplicity of knobs 27 which serve to clamp an applied flexible film or fasten it. For this purpose, the frame 1a can also be designed - similar to two halves of a projector slide frame - in which case flexible films 2 are placed and clamped between two frames 1a.

The frame 1a may also be designed as a type of clamping frame or as clamping spring. A clamping frame results in the films 2 connected to the frames being clamped by the latter, thus avoiding loop formation or pouch formation. Because of the elasticity of the films 2, the cell culture chamber 11a grows appropriately during the culture. The design of a correspondingly open clamping frame is indicated in Fig. 4 by a slit 28 on one side. The frame 1a is designed in this case so that forces acting in the direction of the arrow arise to clamp the films 2 lying in between. In place of the rectangular design, in this case an open round clamping frame will also be used where appropriate, through which all-round clamping of the films 2 is achieved more easily.

The knobs 27 may also be designed as holes into which, for clamping, the films 2 are lowered and appropriately clamped.

- 5
- Fig. 5 shows a cross section along the line V-V in Fig. 4 in enlarged representation (especially of the films). As can be seen, in this case the frame 1a or an edge strip has a slope downward toward the interior.
- 10 This sloping avoids dead spaces in the cell culture chamber 11a when the films 2 and, where appropriate, the film 3 are placed on appropriately. In this case, a cover plate 17 which is depicted in Fig. 2 can be put on top of the film 2 for accurate guidance and location,
- 15 the cover plate 17 having a shape appropriately complementary to the sloping of the frame 1a. The object of the cover plate 17 and its shape will be described in more detail below.
- 20 Fig. 3 shows an inverted arrangement for culturing or treating a cell culture 11 such that, in this case, the carrier plate 1 is at the top and the elastic film 2 hangs underneath. Since the cells in the cell culture 11 sediment in the direction of gravity, in this case
- 25 they lie on the inside of the elastic film 2. It is possible in this case if necessary for the elastic film 2 likewise to be structured like the surface design of the carrier plate 1 in Fig. 1. Owing to the surface structuring, the nutrient medium flows over the cells
- 30 present in the depressions 12 in the form of a fine film. The elastic film in the arrangement shown in Fig. 3 may be appropriately etched for example to form a honeycomb-like structure. Connection of the two films 2 and 3 with the frame-like carrier plate 1a can take
- 35 place, for example, by bolting or clamping, preferably with an appropriate seal as intermediate layer.

It is also evident from the broken-line depiction in Fig. 3 that a unit can also be reflected on a carrier

plate 1, making it possible to use a single carrier plate 1 to form two cell culture chambers 11a. It is possible in this case for the two units to be operated separately from one another, or they can communicate with one another through one or more perforations 26. It is possible in this case where appropriate for a common inflow and a common outflow to be provided. The cells may in this case be placed both on the inside of the cell culture film 2 and on the carrier plate 1. A marked saving in material and costs is achieved in this way.

It is, of course, also possible in a simple way for nutrient medium to flow over the carrier plate 1 directly from the inflow side with inflow connector 4 to the opposite side and then be discharged there. In this case, the inflow channel 5 would be dispensed with, and the transverse channel 8 would merely instead of forming the outflow then be designed as inflow channel and, on the other side, an appropriate outflow channel would be inserted in the carrier plate 1. However, for practical reasons, the direction of flow chosen in Fig. 1 will be provided because, in this case, all inlet and outlet lines, which are generally provided in the form of tubing, will take place from one side and thus be completely accessible from one side. This design will be provided in particular when - as depicted in Fig. 6 - a plurality of devices are treated in a type of bioreactor 14, for example in the form of a vertical rack. For this purpose, the bioreactor 14 has a plurality of slide-in compartments 15 which are arranged appropriately one on top of another and into which sliding of the devices shown in Figures 1 to 4 is possible. All the inflows and outflows are then in this case on one side. The individual modules can also be directly connected with one another.

It is also possible - as can be seen - for a plurality

- 10 -

of rows of slide-in compartments 15 to be arranged side by side in the bioreactor 14. The bioreactor 14 will generally also be provided with wheels 16 for ease of transport.

5

The cover plate 17 is illustrated by means of Fig. 2 as a further possibility for treating a cell culture 11. The cover plate 17 is placed on the film 2. The volume can be minimized by the cover plate 17. The spacings
10 can also be adjusted flexibly. This is a particular advantage in the preparation phase, for example in the first 48 hours, when it is wished to leave the cell culture 11 undisturbed. This results in the dead space over the system not being too large and, at the same
15 time, the diffusion exchange is increased too. As can be seen, the cover plate 17 is also provided with channels 18 or a honeycomb structure which is open at the lateral edges so that air or oxygen is supplied through the channels 18 and from there through the air-
20 permeable film 2 to the cell culture 11. Connection of the cover plate 17 to the carrier plate 1 and a tight connection of the film 2 and - where appropriate of the carrier film 3 - to the edges can be effected by clips which are not depicted or an appropriate screw
25 connection.

The cover plate 17 shown in Fig. 2 can also be designed so that the channels 18 are connected on a supply side to an oxygen carrier (not depicted) and are closed on
30 the other edges. It is possible in this way to produce an individual oxygen supply for the cells. The advantage of such a self-contained device is that air can then be supplied with a particular temperature and/or humidity and, in this way, an individual "biosphere"
35 can be produced. A further advantage of this design is that, if necessary, air can also be fed in under pressure, making it possible to increase the mass transfer and the partial pressure. It would, of course, also be possible in principle to increase the oxygen

concentration correspondingly, but certain cell cultures react unfavorably to an oxygen content which is too high. A treatment under an elevated pressure may, however, have beneficial effects - depending on
5 the cell cultures to be treated.

A further design may comprise a network structure being present in the cell chamber 11a. As is well known, bone marrow grows in bone, and bone-like structures or,
10 correspondingly, a type of network structure or an extracellular matrix can be placed in the interior in order to improve the result, thus providing the cells with a type of microenvironment coming close to the normal environment. Such a network structure may be
15 placed freely in the cell chamber space 11a, or it may be incorporated in the film 2 or the carrier film 3. It would thus become possible to put, for example, calcareous structures (tricalcium phosphate) into the cell chamber 11a.

20 The elastic film 2 and, if used, the carrier film 3 can be appropriately strengthened in the edge region so that the films do not tear. Inflow and/or outflow connectors can also be sealed in this strengthening and
25 then replace the inflow connector 4 and the return flow connector 10 of the carrier plate 1. When a frame-like carrier plate 1a as depicted in Fig. 4 is used, the carrier film 3 and the elastic film 2 result in cell culture chambers 11a. Just like the design shown in
30 Figures 1 to 3, it is possible for frame-like carrier plates 1a with films 2 and 3 fastened thereto to be stacked one on top of the other as desired, in which case the inflow and outflow connectors will be sealed in films 2 and 3 - as mentioned above.

35 The individual devices with their carrier plates 1 can also be connected together in the form of a fit-together system to give units of any length. In this case, appropriate bores and pins are used for the

- 12 -

connection. It is then merely necessary for this purpose to connect the individual inflow connectors 3 and the outflow connectors 10 appropriately.

5 Instead of a carrier plate 1a in the form of a frame as depicted in Fig. 4, it is also possible for a frame-like carrier plate 1a to be replaced by a clamping frame or a clamping wire in any shape, for example in rectangular, square or circular shape, with which the
10 two films 2 and 3 are connected together. In other words: the frame construction shown in Fig. 4 can be curved to form a circle as depicted in principle in Fig. 7, or else in a spiral shape as can be seen in Fig. 8, in which case the material can be moldable or
15 elastic for this purpose. The designs in Figures 7 and 8, in particular Fig. 7, result in a flexible system in the form of a tube with an [sic] in each case one carrier plate or one carrier ring 1b and films 2 and 3 in between, in whose interior the cell culture 11a is present. If the starting material chosen in this case
20 is a frame-like carrier plate 1a as shown in Fig. 4, on which the two films 2 and 3 are fastened, stiffening rings are present only on the two end faces of the tube and are connected together along the surface line by
25 two connecting strips lying side by side. Otherwise, the peripheral wall of the tube is flexible. It is possible, where appropriate, for the two connecting strips also to be omitted. In this case there are only two stiffening rings on the two end faces.

30

The structure in the shape of a ring depicted in Fig. 7 represents only a design in principle and can advantageously be modified from this basic shape. One possible area of use is, for example, a coronary vessel
35 bypass, it having been necessary to date to remove this bypass from a vein of the patient's leg. However, the disadvantage of this is that veins frequently close again after several years because they do not withstand the higher pressure in the region of the arterial flows

- 13 -

on the heart.

With an embodiment of the invention as shown in Fig. 7 it is possible in this way to culture a vessel with the patient's own cells, in which case connective tissue cells are injected together with a collagen mixture between the films 2 and 3 in the cell culture chamber 11a. The cells are then allowed to grow for a particular time until used.

10

Another possible use is for neuronal cells. These cells can also be put into the tubes produced in this way, but in this case it is necessary to avoid them adhering in certain phases of culturing. The tubes in this case serve merely for multiplication of the neuronal cells so that they can subsequently be removed again and used for the neurological patient.

Fig. 9 shows an outline representation in a top view of a tube with three "flaps" 19 drawn inward. This design produces a stability structure which can serve as heart valve.

Fig. 10 depicts in lengthwise section a stability structure which can form a heart valve. As can be seen, the tube has inward protrusions 20. Depending on the purpose of use of such a tube, the inward protrusions may also go so far inward that they make contact or even form a transverse connection in the annular cell culture chamber 11a.

In the manufacture of this form it is possible, for example, for stabilizing rings 21 to be arranged above and below the inward protrusions 20. Clamps 22 can also be placed on the inside above the inward protrusions 20 for accurate determination of the shape (represented by broken lines). The carrier film 3 as carrier on the outside and also the carrier film 3 on the inside are permeable to air and moldable. Nutrient medium flows in

- 14 -

each case between the outer films 3 and the elastic films 2 which are arranged at a small distance therefrom. The elastic films 2 are in this case additionally microporous so that the nutrients or the nutrient medium can diffuse into the annular cell culture chamber 11 located on the inside and having the cells 11 disposed therein.

The cell culture chamber 11a in which the cells 11 appropriate for the particular use are introduced can also be formed by a structure with microporous cells in the manner of an "injection molding process". In this case, the structure in practice represents the carrier portion for the cells 11 and corresponds in its shape to the later shape for use, for example a heart valve or else a bladder as replacement for the tumor patient's own bladder.

In the latter case, the cells can be cultured in the particular shape of a type of double-air balloon which has an inlet and outlet and which is elastic. The outer film 3 in each case is moreover gas permeable, and is elastic where appropriate, and the microporous film 2 is present inside.

The structure may, for example, comprise a housing which is either biodegradable and thus decomposes, or it consists of a plastic which is removed again later. The housing ought to be flexible and correspond in its shape to the shape of the organ to be replaced or formed. In this way, the cells are provided in practice with a mold into which a connective tissue matrix or collagen matrix with cells is then injected. The whole system becomes solid and can form networks, also in three-dimensional growth, and absorb the matrix during this.

As a further advantageous use, the microporous film 2 can also be produced from a material which itself

↑
support
structure
in shape
of prosthesis

Boundary
layer
- biodeg.
or
removable

- 15 -

dissolves after a certain time. This applies, for example, to particular polymers such as, for example, polylactide, alkanoates or butyrates which dissolve, for example, after several weeks. If, for example, 5 connective tissue cells have formed the framework in a matrix structure, then the "inner lining" of many organs must be attached, which is done with endothelial cells. These endothelial cells can be applied, for example, when the microporous film 2 has dissolved. In 10 this case, separate flow into the cell culture chamber 11a is still always possible. In general, the cells 11 will be introduced together with a matrix, for example collagen, into the cell culture chamber 11a, where they can multiply appropriately. In the case of replacement 15 for a heart valve, the endothelial cells are applied on the inside and the connective tissue cells with muscle are applied on the outside. This means that the endothelial cells are applied on the side of the film 2 which is directed toward the interior of the tube. It 20 is likewise possible for the film 2 to be designed to be dissolvable, or removable.

The fact that the films are elastic produces a substantially natural environment for the cells 11 to 25 be cultivated, since a heart pumps, resulting correspondingly in pressure waves which act correspondingly on the cells 11.

When the culturing is finished, the rings 21 and, where 30 appropriate, the clamps 22 can be removed, since the unit is then stable on its own and it can be inserted at the desired site.

Fig. 11 shows another possibility for producing a heart 35 valve or else another structure. In this case, the tube with the inward protrusions 20 is present in a container 23 in which nutrient medium is present. The container, which is provided with inflow orifice and outflow orifice which are not depicted, can be provided

- 16 -

with a lid 24, with the structure "floating" in the nutrient medium or being suspended therein. In this case, the two outer films 3 can be omitted and only the microporous elastic films 2 are present, between which
5 the annular cell culture chamber 11a with the inward protrusions 20 is located. Oxygen or air is also introduced into the container 23, it being possible for a stirring element 25, which is not depicted in detail, to be disposed in the containers 23 for uniform
10 agitation or distribution.

In a simplification of the structure depicted in Fig. 11 and of the method resulting therefrom, the outer film 3 can also be designed to be only air
15 permeable and acts as carrier film. The supply of nutrient medium from the container takes place in this case only from the inside through the microporous inner film 2.

20 The cell culture and cell treatment method can in principle take place with all the exemplary embodiments mentioned above in the cell culture chamber 11a in the following way:

25 In a first step, the matrix or the collagen is prepared externally. The matrix or the collagen is then injected into the cell culture chamber 11a. The structures or the cell culture chamber 11a can be either already coated with cells, or the cells 11 are injected
30 directly together with the collagen or with the matrix.

In a next step, the modeling phase or the cell multiplication takes place, with the cells 11 transforming the matrix correspondingly. It is then
35 possible - if necessary - for further cell types to be added, for example if a film has dissolved appropriately or it has been removed.

*cells &
matrix
(support
structure)*

Another very great advantage of the invention is that

the finished structure can subsequently be frozen. This is possible with the device of the invention and the method of the invention, in contradistinction to other reactor systems, since virtually a thin-layer system is present. Heat is released in the cells when the cells are frozen and the associated crystal formation takes place. This release of heat must be countered by cooling. It is therefore impossible with the known reactor systems to freeze the cells 11 in a coordinated manner. In the present case, however, because of the thin-layer system it is possible to freeze all the cells more or less uniformly, it being possible to counteract the production of heat during crystal formation in a specific and uniform manner. It is possible in this way for the cells 11 to freeze in a coordinated manner, it being possible to counteract in practice the production of heat by a simple introduction of gas, for example of nitrogen.

Structures frozen in this way can thus be kept as long as desired for later use and/or else be transported, appropriately cooled, into a clinic and there implanted shortly after thawing and, where appropriate, after a further rinsing. This means that the device of the invention and the method is not just a cultivation system but also a transport system, with the sterile chain being uninterrupted.

When used for liver cells, an extracorporeal connection or use is also possible.

It is also possible in a very advantageous manner to produce and multiply skin cells with the invention. In this case, connective tissue cells of the skin are introduced, for example with collagen, into the cell culture 11a - as depicted in Fig. 3. In a second phase, the keratinocytes, i.e. keratinizing cells which comprise the epidermis, are applied, so that the whole system grows inward in a plurality of layers. After

- 18 -

completion of the culture method, the film can be cut up or pulled off. To ensure sterility, the structure can also be put in a housing or form a small closed box. Controlled culturing of skin is possible in this way.

In contradistinction to the prior art, the skin in this case is built up in the way in which it must later be applied. This means that the keratinization takes place on the outside and not on the inside, and in this case there is not initial production of connective tissue but first the epidermal cells are applied directly to the film and then the collagen is injected.

With the device of the invention it is also possible to use embryonic cells. Embryonic cells are cells which have not yet developed their own tissue expression pattern. The microenvironment and the matrix can provide the possibility of these cells being converted into tissue expression which corresponds to terminal differentiation, i.e. definitive differentiation. A coating with peptides is possible.

Films which can be used are PTFE, silicone, polylactide, polyhydroxyalkanoate and polyhydroxybutyrates. The essential point is that they belong very generally to the group of biodegradable polymers, i.e. structures which can be broken down either by hydrolysis or enzymatically, which makes them implantable.

An essential feature of all carrier structures and of the various designs of carrier 1 is that they can be moldable or modelable. Besides changes in the volume of the system and of the cell culture chamber, it is possible in this way to change the geometry of the bioreactor or of the device. The system can also be reversibly changed in shape during operation through alterations in the perfusion pressure because of the

- 19 -

elastic properties of the materials used (memory effect).

Cells 11 which can be modeled by the cell culture
5 chamber 11a can be introduced with matrix into the cell
culture chamber 11a.